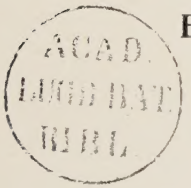
(Aus dem chemischen Laboratorium des physiologischen Instituts zu Breslau.)

Über das Kasein als Säure und seine Unterschiede gegen das durch Lab veränderte (Parakasein). Theorie der Labgerinnung.

Inaugural-Dissertation,

welche mit Genehmigung
der Hohen Medizinischen Fakultät der Königl. Universität Breslau
zur
Erlangung der Doktorwürde
in der
Medizin und Chirurgie
am
Mittwoch, den 22. Februar 1905, Mittags 12½ Uhr
in der
Aula Leopoldina der Universität
öffentlich verteidigen wird

Ernst Laqueur,
approb. Arzt.



Opponenten:

Dr. Walter Hannes,
Assistenzarzt der Kgl. Frauenklinik zu Breslau,

Dr. Franz Kramer,
Assistenzarzt der Kgl. Poliklinik für Nervenkranke zu Breslau.

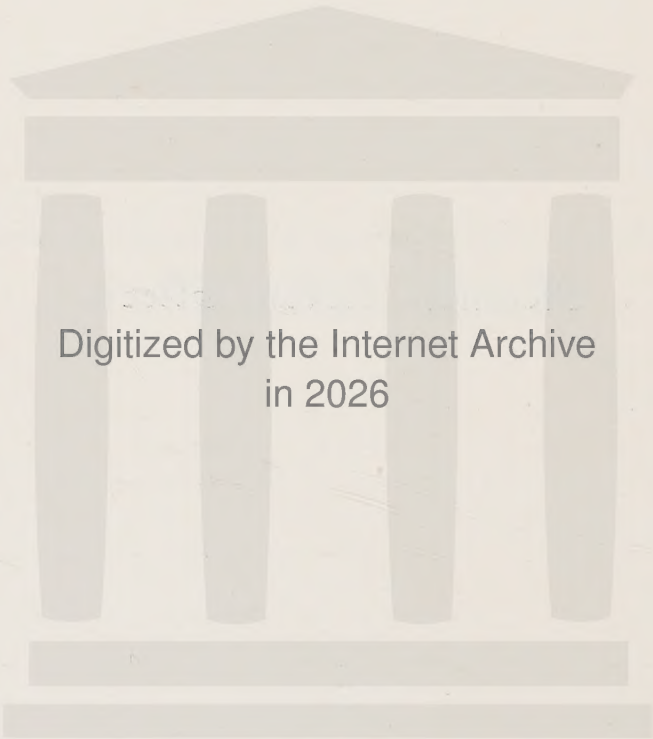
Breslau 1905.
Druck von Th. Schatzky G. m. b. H., Neue Graupenstrasse 5.

Gedruckt mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät der Universität Breslau.

Referent: Prof. Dr. Röhmann,
Correferent: Prof. Dr. Hürthle.

v. Mikulicz,
Dekan.

Meinen lieben Eltern.


Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41543101_0097

Plan der Arbeit.

Die vorliegende Arbeit bildet die Fortsetzung einer früheren Untersuchung, die ich gemeinsam mit Otto Sackur über die Säurenatur des Kaseins angestellt habe. In dieser hatten wir sein maximales Basenbindungsvermögen bestimmt, ferner die für Phenolphtalein neutralen Kaseinalkalilösungen auf ihre elektrische Leitfähigkeit und Innere Reibung untersucht.

I. Die folgenden Mitteilungen erstrecken sich in einem ersten Teile auf diejenigen Kaseinlösungen, in denen das Labferment zu wirken imstande ist, d. s. die der sog. sauren Salze, und zwar wurde ebenfalls ihre elektrische Leitfähigkeit und Innere Reibung gemessen.

II. In dem zweiten Teil der Arbeit wurde festgestellt, wie sich die Fällbarkeit durch Ammonsulfat, die Leitfähigkeit und Innere Reibung dieser Lösungen nach der Einwirkung von Lab ändert.

III. In dem dritten Teile wurde eine Erklärung dieser Veränderungen und damit auch eine Deutung der Labwirkung versucht.

I. Teil.

Die sauren Salze.

Bereits Söldner hatte Lösungen von Kasein dargestellt, welche auf die gleiche Menge Kasein wechselnde Mengen der Base enthielten. Er wie andere sprachen von „neutralen“ (unsere „sauren“) und „basischen“ (unsere „neutralen“) Salzen. Courant unterschied drei Reihen von Salzen, aber nur auf

Grund von Erfahrungen, dass Kasein sich in verschiedenen Mengen von Alkalien löst; ferner dass man auf Lakmus (Lakmoid) basisch, auf Phenolphtalein noch sauer reagierende Kaseinalkalilösungen kennen lernte, und durch Titration mit diesen Indikatoren unter gleichen Umständen (gleicher Verdünnung, gleicher Temperatur, gleich starkem Alkali) bestimmte Verhältnisse der Mengen Alkali zu Kasein ungefähr feststellte. Der Schluss, dass aber eine Lösung, die für Lakmus an einem nur ungefähr zu bestimmenden Punkte neutral reagiert, wirklich einen chemisch einheitlichen Körper (das saure Salz) enthält, ist unberechtigt. Denn diese Tatsache sagt nur aus, dass die H-Jonen- und OH-Jonenkonzentration einen bestimmten Betrag nicht übersteigt. Diese kann dieselbe sein, gleichgiltig ob sich in der Lösung die Jonen eines sauren Salzes, wie etwa HNaCas oder die des Gemisches des neutralen Salzes NaCas mit der Säure HCas befinden, wo Cas das Anion des Kaseins bedeuten soll.

Bei Courant wird ersichtlich, dass es ihm bei Behauptung saurer Salze mehr um eine physiologische als um eine chemische Teilung zu tun ist. Für ihn ist das wesentliche, dass Lösungen von Kasein, die noch nicht die zur Neutralität nötigen Mengen Alkali, sondern nur etwa zwei Drittel davon enthalten, allein für Lab gerinnbar sind. Durch Analogisierung mit der Phosphorsäure spricht er, und dann namentlich in neuerer Zeit Fuld, von Mono-, Di-, Trikaseinen.

Courants primäres Salz ist überhaupt nicht nachzuweisen, indem Kasein in einem Drittel der für das tertiäre Salz nötigen Menge Alkali nach seiner eigenen Angabe nur eine Gallerte gibt; an einer anderen Stelle erhält er es, indem er Kasein in zureichender Menge Alkali löst, dann mit Säure zurücktitriert, wobei das Ausfallen des Kaseins nur sehr schwer zu hindern ist. Von dieser Lösung kann man aber nicht behaupten, dass sie das „primäre Salz“ enthalte.

Methoden, die bei anderen Säuren zur Feststellung ihrer Wertigkeit anwendbar sind, versagen hier. Die sicherste: die Analyse des sauren Salzes ist unmöglich. Würde man in den sauren Kaseinalkalilösungen das saure Salz z. B. durch Aussalzen darzustellen suchen, so fiele natürlich der etwa nicht salzartig gebundene Kaseinanteil mit aus.

Mehr Aussicht zur Charakterisierung der sauren Salze boten nach den Aufschlüssen, die wir in oben zitierter Arbeit über die neutralen Kaseinsalze gewonnen hatten, die physikalisch-chemischen Methoden.

In der früheren Arbeit hatten wir das maximale Basenbindungsvermögen des Kaseins bestimmt und als Durchschnittswert aus vielen Titrationen verschiedener Präparate mit Natronlauge, Baryt- oder Kalkwasser gefunden, dass 1 gr Kasein Trockensubstanz 8,81 $\frac{\text{Normal}}{10}$ Lauge bindet, d. h. soviel verbraucht, um eine für Phenolphtalein neutrale Lösung zu geben; da diese Zahl sich in weiteren Grenzen als unabhängig von der Verdünnung, unabhängig von der Stärke der angewandten Lauge erwies, durften wir von einer chemischen Verbindung nach konstanten Gewichtsverhältnissen sprechen.

Aus diesen Bestimmuugen ergiebt sich, dass sich 1 gr Kasein mit 0,881 Millimol Natrium oder 1 Gr-Atom Natrium sich mit 1135 gr Kasein zu einem neutralen Salze verbindet, 1135 ist also das Äquivalentgewicht des Kaseins.

Diese Zahl auch für das Molekulargewicht zu halten, ist nach den sonstigen Erfahrungen über dessen Grösse bei Eiweisskörpern und speziellen Berechnungen für das Kasein aus dem Schwefel- oder Phosphorgehalt nicht angängig. Dieses muss also höher sein, um wieviel höher, suchten wir nach einer von Ostwald und Walden angegebenen Methode zu bestimmen.

Diese hatten empirisch festgestellt, dass Natriumsalze der verschiedensten Säuren die Beziehung zeigen: $\Lambda_1 - \Lambda_2 = k\,n$, wo Λ_1 und Λ_2 die Äquivalentleitfähigkeiten bei den Verdünnungen v_1 und v_2, n die Wertigkeit der Säure und k eine Konstante, die von der Natur des Anions unabhängig ist, bedeuten.

Handelt es sich aber um Vergleich von Anionen, deren Beweglichkeiten eine verschiedene Grössenordnung besitzen, so ist aus hier nicht zu erörternden Gründen, nicht die absolute Abnahme der Leitfähigkeiten $\Lambda_1 - \Lambda_2$, sondern die relative $\frac{\Lambda_1 - \Lambda_2}{\Lambda_1}$ als Mass der Abnahme des Dissociationsgrades und

somit der Wertigkeit des Anions zu betrachten, wenn Λ_1 nicht weit von dem Grenzwert $\Lambda\infty$, d. i. Leitfähigkeit bei unendlich grosser Verdünnung, entfernt ist.

Aus den Ostwald'schen Zahlen ergab sich für k 0,07; wir erhielten $\frac{\Lambda_{640} - \Lambda_{40}}{\Lambda_{640}} = 0{,}33$, also eine Zahl, die einer 4—5—6 basischen Säure entspricht.

Gegen diese Methode ist aber der Einwand zu erheben, dass die Hydrolyse die Resultate verschleiert; bei stärker hydrolytisch gespaltenen Salzen wird, da die Hydrolyse mit der Verdünnung zunimmt, die Differenz zwischen $\Lambda_1 - \Lambda_2$ zu hoch ausfallen; wir hatten uns aus diesem Grunde, und um die Störung durch die Eigenleitfähigkeit des Verdünnungswassers möglichst klein zu halten, die Grenzen (v = 640) ziemlich eng gesteckt. Mit Rücksicht auf diesen Einwand konnten wir auch nur mit allem Vorbehalt die Wertigkeit des Anions angeben.

Trotzdem war diese Feststellung, wie auch die genaue Angabe des Äquivalentgewichtes von Wichtigkeit, weil sie bisher die einzige nicht ohne weiteres anders zu erklärende Hindeutung auf die Existenz saurer Salze enthielt.

Wie verhielten sich nun die für Phenolphtalein sauren Lösungen?

Zu den Versuchen diente teils das von den Höchster Farbwerken bezogene Kasein, teils ein von mir selbst nach der Hammarsten'schen Methode dargestelltes Präparat.

Zur Prüfung der Reinheit der Präparate brauchte ich das Basenbindungsvermögen und erhielt im Mittel nur um wenige Prozente differierende Werte.

Elektrische Leitfähigkeit.

Die Bestimmungen wurden nach der Kohlrausch'schen Wechselstrommethode mit Telephon und Wheatstone'scher Brücke im Thermostaten bei 25° ausgeführt. Als Elektroden wurden Tauchelektroden verwandt.

Die zur Untersuchung kommenden konzentriertesten Lösungen wurden durch Auflösen von abgewogenem, lufttrockenem Kasein in kohlensäurefreier Natronlauge hergestellt.

Eine gewisse Schwierigkeit bietet es, Kasein in weniger als in einer zur Neutralität nötigen Menge Lauge aufzulösen. Am besten verfährt man, wenn man Kasein in Wasser fein verteilt und dann unter fort-

währendem Schütteln allmählich Lauge hinzusetzt; oft war zum Verschwinden kleinster Kaseinteile vierundzwanzigstündiges Stehen notwendig. Die verdünnten Lösungen wurden durch Verdünnen der konzentrierten Lösung mit dem gleichen Volumen Wasser im Leitfähigkeitsgefässe selbst hergestellt.

Die Übereinstimmung der einzelnen Versuchsreihen war keine sehr gute: und zwar liegt dies an der Schwierigkeit, den Widerstand der Lösungen genau zu bestimmen. Es ist nämlich auffallend, wie schnell sich dieser auch während kurzer Zeit ändert. Wiederholt man nun aber die Ablesungen häufiger, um aus ihnen das Mittel zu finden, so lässt sich auch bei kurzem Stromschluss nur schwer geringes Ausfallen von Eiweiss an den Elektroden vermeiden; abgesehen von der Konzentrationsänderung, die wohl nicht wesentlich ist, ändert sich die Kapazität bedeutend, und dies macht dann eine genaue Bestimmung unmöglich. Ausser dieser Fällung müssen noch andere unbekannte Ursachen mitwirken, die den Widerstand ändern, denn dieser bleibt auch ohne sichtbare Fällung nicht konstant. Man darf hier wohl an analoge Erfahrungen bei andern Kolloiden denken, die ohne erkennbare äussere Ursache irreversible Zustandsänderungen zeigen, eine Eigenschaft, die von Bemmelen mit dem Namen „Hysteresis“ belegte. Namentlich wird diese Eigenschaft bei etwas grösseren Zeiträumen von 24 und 48 Stunden zwischen den einzelnen Messungen deutlich, wo Unterschiede in der Leitfähigkeit bis 11 % nichts Ungewöhnliches sind, die meist in der Richtung lagen, dass die Leitfähigkeit der frischen Lösung eine bessere war. Etwaige Fäulnis dafür verantwortlich zu machen, ist wohl nicht angängig, da die Lösungen bei 0 bis 4° in verschlossenem Gefässe aufbewahrt wurden, und sich auch nach 6tägigem Stehen bei dieser Temperatur nicht im geringsten von frisch bereiteten unterschieden, besonders keine Zeichen von Fäulnis [Geruch, Trübungen] zeigten.

Diese Unzulänglichkeiten bei der Leitfähigkeitsmethode konnten nur durch die Zahl der Versuche ausgeglichen werden. Da ich diese aber sehr gross werden liess, darf die Kurve der Äquivalent-Leitfähigkeiten, die sich dann durch graphische Interpolation ergab, auf eine befriedigende Annäherung an die tatsächliche Anspruch machen.

Die konzentriertesten Lösungen enthielten aus später zu erörternden Gründen zu einem grossen Teile auf 20 cc^3 2 Tropfen (0,08) gekochte Lablösung. Der dadurch entstehende Fehler war zu vernachlässigen, da er kleiner als die Abweichungen zwischen den einzelnen Versuchsreihen war.

Die I. Tabelle enthält zum Vergleich die Leitfähigkeit der neutralen Salze.

In der ersten Spalte steht der Prozentgehalt an Kasein; in der zweiten die Verdünnung v in Äquivalenten des Natriums; in der dritten die spezifische Leitfähigkeit $\varkappa$ in reziproken Ohm; die vierte enthält das hierauf bezogene Äquivalent-Leitvermögen $\Lambda = \varkappa \cdot 1000\ v$, die Zahlen in den Klammern daneben sind die Ergebnisse aus der früheren Arbeit.

Tabelle I.

% Kasein	v	$\varkappa$ (25 °)	Λ
2,78	40	$11{,}25 \cdot 10^{-4}$	45,0 (46,5)
1,39	80	6,12 „	49,0 (51,3)
0,695	160	3,40 „	54,5 (56,2)
0,3475	320	1,87 „	60,0 (63,0)
0,1737	640	1,04 „	66,5 (69,5)

Die Zahlen zeigen gegen die in der früheren Arbeit gewonnenen Abweichungen; es liegt dies wohl an den schon oben erwähnten Schwierigkeiten in der Methodik. Der Gang der Kurve ist übrigens ganz der gleiche und die relative Abnahme

$$\frac{\Lambda_{640} - \Lambda_{40}}{\Lambda_{640}} = \frac{66{,}5 - 45{,}0}{66{,}5} = \underline{0{,}324}$$

statt 0,331.

Die sauren Lösungen, deren Leitfähigkeit in Tabelle II folgt, enthielten 47 - 56 % der zur Neutralität nötigen Menge Natronlauge.

Als Prozentgehalt an Kasein ist der Durchschnitt der einer Lösung angenommen, die nur 50 % der zur Neutralisation des Kaseins nötigen Lauge enthält. Die Bezeichnungen sind sonst die gleichen wie in Tab. I.

Die erste Zeile enthält schon eine verdünntere Lösung, weil das Arbeiten mit noch konzentrierteren zu schwierig ist.

Tabelle II.

% Kasein	v	x	Λ
3,56	62,5	$7{,}92 \cdot 10^{-4}$	49,5
2,78	80	6,5 „	52,0
1,39	160	3,53 „	56,5
0,695	320	1,95 „	62,5
0,3475	640	1,08 „	69,0

Das Auffallende im Vergleich von Tabelle I mit Tabelle II ist die Übereinstimmung im Gange der Kurve, und mehr noch der einzelnen Werte bei gleicher Verdünnung. Mit den früher gewonnenen Zahlen der neutralen Salze herrscht fast völlige Identität. Die Leitfähigkeit der sauren Salze macht den Eindruck, als ob für deren Grösse nur das Natrim in Betracht kommt, gleichgiltig mit wieviel Kasein es verbunden ist.

Eine Entscheidung der Frage, ob nun Kasein saure Salze bilde, erhalten wir darum durch die Leitfähigkeitsmessungen in den sauren Lösungen nicht; denn nähere theoretische Betrachtung lehrt uns, dass das obige Resultat: die Übereinstimmung der Leitfähigkeitskurve der neutralen und sauren Kaseinlösungen, erklärt wird, sowohl, wenn man die Existenz saurer Salze annimmt, als, wenn man sie leugnet.

Fassen wir zunächst diesen letzteren Fall ins Auge: Kasein bilde **keine** saure Salze, dann hätten wir in den sauren Lösungen ein Gemisch der Säure HCas (Kasein) mit dem neutralen Salz NaCas. Von der Säure, dem Kasein, wissen wir nun aus unseren früheren Untersuchungen, dass sie unlöslich ist, folglich wird sie auch in diesen Lösungen nicht im osmotischen Sinne gelöst, sondern nur kolloidal, gleichsam in Suspension, enthalten sein. Dies beweist auch das sehr trübe Aussehen der Lösungen. Denn Trübung, Opalescenz, bedeutet eben, dass die Lösung, da optisch nicht „leer", noch Teile mit Oberflächen enthält, d. h. ungelöste Bestandteile. (Ganz die gleiche Erklärung gaben wir früher für das Trübwerden der neutralen Lösungen durch Säurezusatz, was ja im Wesentlichen derselbe Vorgang ist, wie Lösen in einer zur Neutralität ungenügenden Menge.)

Die Unlöslichkeit des Kaseins ist aber bisher nur in reinem Wasser nachgewiesen; es ist immerhin noch mit der Möglichkeit zu rechnen, dass es in dem das Kaseinsalz enthaltenden Medium zum Teil wenigstens löslich ist.

Aber auch in diesem Falle käme der lösliche Teil für die Leitfähigkeit nicht in Betracht, denn er könnte nur minimal dissoziert sein. Es handelt sich nämlich dann um die Mischung eines schwachen Elektrolyten (Säure HCas) mit einem starken gleichionigen Salz (NaCas). Bedeute k Dissoziationskonstante, α Dissoziationsgrad, c Konzentration, 1 Säure, 2 Salz, · so gilt bekanntlich (vergl. Abegg Dissoziationstheorie)

$$k_1 = \alpha_1 \cdot c_1 \frac{(\alpha_1 \cdot c_1 + \alpha_2 \cdot c_2)}{(1-\alpha_1) \cdot c_1} = \alpha_1 \frac{(\alpha_1 \cdot c_1 + \alpha_2 \cdot c_2)}{1-\alpha_1}$$

Da die Säure (1) schwach, α_1 also klein ist, gilt annähernd $1 - \alpha_1 = 1$; da ferner das Salz (2) in verdünnten Lösungen sich befindet, ist annähernd $\alpha_2 = 1$. Es ergiebt sich dann $k_1 = \alpha_1^2 \cdot c_1 + \alpha_1 \cdot c_2$; in einer Lösung, die 50 % der zur Neutralität nötigen Natronlauge enthält, ist $c_1 = c_2$. Ferner ist α_1 klein, mithin α_1^2 gegen α_1 zu vernachlässigen und annähernd gilt $k_1 = \alpha_1 \cdot c_1$.

Während also der Dissoziationsgrad bei schwachen Elektrolyten $\alpha = \sqrt{\frac{k}{c}}$ ist, so ist er hier der Konstanten k direkt proportional, die H· Konzentration also äusserst gering, mithin auch der Anteil der Säure an der Leitfähigkeit des Gemisches zu vernachlässigen. Dadurch wäre die Übereinstimmung der Leitfähigkeit der neutralen und sauren Lösungen, bezogen auf die gleiche Verdünnung des Natriums, genügend erklärt.

Untersuchen wir den anderen, wahrscheinlicheren Fall, das Kasein bilde saure Salze, so befinden sich unter Annahme seiner Sechswertigkeit, bei Zufügung von nur 50 % der zur Neutralität nötigen Natronlauge, in der Lösung alle möglichen Kombinationen der dissozierten und undissozierten Molekelformen $CasH_6$ und 3 NaOH. Die dissozierten Formen $CasH_5'$, $CasH_4''$ u. s. w. H·, Na·, OH', werden im Gleichgewicht sein mit den undissozierten $CasH_6$, $CasH_5$, u. s. w. Dieses Gleichgewicht wird, jemehr Natronlauge und mit ihr OH' zugefügt werden, nach Bildung von Cas Jonen verschoben,

und zwar jemehr OH', um so weniger H Atome enthalten die Cas—anionen, die sich der Form Cas'''''' zu nähern suchen. In den neutralen Salzen ist dieser Endzustand keineswegs erreicht. Denn die geringe Jonenbildungstendenz lässt, wie wir früher gezeigt haben, immer wieder $CasH_6$ entstehen (Opalescenz der Lösung, alkalische Reaktion auf Lakmoid, d. i. Treten von OH' an Stelle der Cas'), die Zwischenstufen $CasH_5'$, $CasH_4''$ u. s. w. sind also immer noch in höherem Mass vorhanden als das Jon Cas''''''. Überlegen wir nun weiter, dass die Leitfähigkeit des Salzes überhaupt nur zum kleinsten Teile auf Kosten der Kasein-Jonen zu setzen ist, da das meiste daran die viel schneller beweglichen Na', und bei grosser Verdünnung die durch die Hydrolyse auftretenden sehr beweglichen OH' tragen; und wissen wir ferner, dass, je komplizierter die Anionen sind, desto bedeutungsloser für ihre Beweglichkeit die Vermehrung um einzelne Atome, also hier H Atome ist, — so wird verständlich, dass die Leitfähigkeit nicht anders wird, ob die vorhandene negative Elektrizitätsmenge sich beispielsweise auf 6 $CasH_5'$ oder 3 $CasH_4''$ u. s. w. verteilt. Die Na· konzentration wird die Grösse der Leitfähigkeit hier wesentlich bestimmen.

Hierfür sollen noch einige Zahlen angeführt werden; diese zeigen auch, dass es bei Berechnung der Leitfähigkeitskurve der sauren Salze gleichgiltig war, ob wir Salze untersuchten, die nur zu 46,8 oder zu 56,0% neutralisiert waren.

Die Bezeichnungen sind die gleichen wie oben, nur steht in der zweiten Spalte, wieviel Prozent der zur Neutralität nötigen Menge Natronlauge angewandt ist (relative Acidität.)

Tabelle III.

% Kasein	% Acidität	v	z	Λ
1,99	46,3	119,0	$4{,}45 \cdot 10^{-4}$	52,9
	58,0	96,1	5,44 „	52,3
	69,0	80,6	6,45 „	52,0
	91,4	61,0	7,90 „	48,2

Die Abnahme der Aequivalentleitfähigkeiten entspricht der der Verdünnung.

Die Leitfähigkeitsergebnisse zusammenfassend, müssen wir sagen, dass die Messungen uns nicht das erwünschte Resultat geliefert haben: die Existenz saurer Salze war dadurch nicht nachzuweisen, aber das Verhalten der Leitfähigkeit sprach auch nicht gegen sie.

Innere Reibung.

Die Messung der Inneren Reibung dagegen zeigte, dass es sich in den sauren Lösungen wohl nicht um ein Gemisch von gleichen Teilen ungespaltener Säure und Neutralsalz handeln kann, sondern, dass die zuletzt besprochene Auffassung: die Annahme saurer Jonen zu Recht bestehe.

Die Innere Reibung wurde nach der von Arrhenius beschriebenen Poiseuille-Ostwald'schen Methode durch Messung der Ausflussgeschwindigkeit aus einer Capillare bei 25° gemessen. Die Temperatur wurde auf $^1/_{10}{}^0$ genau gehalten, die senkrechte Stellung des Ausflussrohres durch eine Einrichtung garantiert, die der im Ostwald'schen Institute gebräuchlichen nachgebildet war.

Wenn t die Zeit bedeutet, welche reines Wasser durch die Kapillare fliesst, T die Ausflusszeit desselben Volumens der zu messenden Lösung, s spezifisches Gewicht des Wassers, S das der Lösung, so ist die Innere Reibung bezogen auf Wasser als Einheit:

$$\eta = \frac{S \cdot T}{s \cdot t}$$

Die spezifischen Gewichte der konzentriertesten Lösungen wurden mit dem Pyknometer bestimmt, sie betrugen gewöhnlich 1,01 — 1,008; die der verdünnteren wurden durch Interpolation berechnet.

Arrhenius hat gefunden, dass die Beziehung gilt: $\eta = A^n$ oder $\frac{\log \eta}{n} = \log A$, wo A eine von der Natur des gelösten Stoffes abhängige Konstante ist.

Wir hatten in der früheren Arbeit bei neutralen Salzen diese Beziehung bestätigt gefunden, und zwar schwankend von 14,8—14,3, bei Lösungen, die 2,0—0,5 % Kasein enthielten. Ich wiederholte zunächst diese Messungen an neutralen Salzen in grösserem Umfange, um entgegen neueren Behauptungen

von der sehr beschränkten Giltigkeit der Arrhenius'schen Formel, neues Material zu ihrer Bestätigung herbeizuschaffen.

In Tabelle IV steht in der ersten Spalte Prozentgehalt an Kasein, in der zweiten Normalität an Natronlauge, in der dritten η, die auf Wasser bezogene Innere Reibung, in der vierten $\log A = \frac{\log \eta}{n}$, in der fünften eine andere Konstante $\log B = \log \eta$ dividiert durch den Prozentgehalt an Kasein.

Tabelle IV.

% Kasein	n	η (25 °)	log A	log B · 10^2
3,024	0,0276	2,46	14,2	12,9
1,512	0,0138	1,56	14,0	12,7
0,756	0,0069	1,257	14,4	13,1
0,378	0,00345	1,128	15,2	13,8
1,345	0,0122	1,49	14,2	12,9
0,6725	0,0061	1,22	14,1	12,8
2,96	0,02622	2,48	15,0	13,3
1,48	0,01311	1,54	14,3	12,7

Die Übereinstimmung der Konstanten ist eine befriedigende.

Versuche η als eine lineare Funktion darzustellen, wie z. B. $\eta = 1 + a \cdot n$, und andere misslangen vollkommen, etwas besser, wenn auch nur in engen Grenzen, genügte eine quadratische Gleichung $\eta^2 = a \cdot n$.

In der Tabelle V folgen die Ergebnisse über die Innere Reibung der sauren Salze.

Die Bezeichnungen sind dieselben wie in Tabelle IV, nur ist in der dritten Spalte angegeben, wieviel Prozent der zur Neutralität nötigen Lauge die Lösung enthält.

Tabelle V.

% Kasein	n	% Acidität	η	log A	log B · 10^2
1,501	0,00691	51,0	1,54	26,9	12,4
3,24	0,0153	52,5	2,44	25,4	12,0
3,70	0,01865	55,5	2,88	24,6	12,4
1,85	0,009325	—	1,71	25,0	12,6
3,78	0,01904	55,5	2,89	24,2	12,2
1,89	0,00952	—	1,68	23,7	11,9
0,945	0,00476	—	1,27	21,8	11,0

Bei der ersten Betrachtung fällt auf, dass log A nicht konstant ist, gegenüber der ziemlichen Konstanz des log B, es liegt aber hierin, wie wir noch sehen werden, der Beweis, dass das Kasein auch in den sauren Lösungen zum grössten Teile als Jon enthalten ist.

Die innere Reibung einer Elektrolytenlösung ist zusammengesetzt aus der Reibung der Jonen und des undissozierten Bestandteiles, also $\eta = S^x \cdot A^y \cdot K^y$, wo S die Reibungskonstante des undissozierten Anteiles, x seine Konzentration, A, K, die Reibungskonstanten des Anions und Kations, y deren Konzentration bedeutet, bei schwachen Elektrolyten käme noch als vierter Faktor, die durch die Hydrolyse freigewordene Säure bez Base hinzu, F^z, wo F diesen hydrolytisch abgespaltenen Teil, z seine Konzentration darstellen soll.

Nun dürfen wir die hohe Innere Reibung von Kaseinsalzen hauptsächlich auf Rechnung des Kaseins setzen K^y gegen A^y vernachlässigen, ferner wird x die Konzentration an ungespaltenem Kaseinsalz bei den relativ verdünnten Lösungen, die wir nur untersuchen können, gering sein; der letzte Faktor endlich F^z wird für die Innere Reibung hier auch nicht unmittelbar in Betracht kommen, da F das abgespaltene Kasein zum grössten Teile unlöslich, nur in Suspension enthalten ist: solche kleine suspendierten Teilchen haben aber bekanntlich darum keinen Einfluss auf die Innere Reibung, da sie sich ebenso wie die Wände des Kapillarrohres mit einer Flüssigkeitsschicht beziehen, und so immer nur Teile der Flüssigkeit gegen einander reiben. Wir können also, namentlich im Hinblick auf einige sogleich zu beschreibende Versuche, daran festhalten, dass die Kaseinionen die Innere Reibung hauptsächlich bewirken.

Beständen nun, wie wir bei Besprechung der Leitfähigkeit als ersten möglichen Fall annahmen, die sauren Lösungen, die etwa 50 % der zur Neutralität nötigen Menge Lauge enthalten, aus einem Gemisch von gleichen Teilen Neutralsalz und Säure, so müsste die Konstante der Innern Reibung bezogen auf Aequivalente Natrium in den neutralen und sauren Lösungen ungefähr dieselbe sein, bezogen aber auf den Kaseingehalt in den sauren Lösungen etwa nur die Hälfte betragen. Denn der Einfluss der Säure auf die Innere Reibung ist, wie schon

erwähnt, gering, da sie entweder ganz ungelöst, jedesfalls aber so gut wie nicht ionisiert ist, und spätere Versuche noch näher zeigen werden, wie die Jonen hauptsächlich die Ursache der hohen Inneren Reibung unserer Lösungen sind.

Nun finden wir aber die Konstante $\log A = \frac{\log \eta_r}{n}$ wo n die Normalität an Natrium bedeutet, in den sauren Salzen doppelt so gross, die Konstante $\log B = \frac{\log \eta_r}{\%\text{ Kaseingehalt}}$ aber annähernd gleich wie in den neutralen Lösungen. Daraus geht hervor, dass jedes Kaseinmolekül in beiden Fällen den gleichen Einfluss auf die Innere Reibung hat; dies kann es aber nur, wenn es auch in den sauren Lösungen als Jon enthalten ist. Ihr Unterschied gegenüber den neutralen besteht dann, wie schon erwähnt, darin, dass die herrschenden Jonengleichgewichte nach der Richtung verschoben sind, dass mehr Jonen existieren, die noch mehrere H-Atome besitzen. Da der Einfluss einzelner H-Atome auf die Jonenbeweglichkeit und somit Reibungsgrösse sehr gering ist, so wird verständlich, wenn wir jetzt zusammenfassend sagen: in Lösungen von gleichem Prozentgehalt an Kasein wird die Innere Reibung annähernd dieselbe sein, wenn die Konzentration an Kaseinionen die gleiche ist, unabhängig von ihrer Art.

Hier müssen wir nochmals auf einen schon erwähnten Faktor eingehen, die Hydrolyse.

Das hydrolytisch abgespaltene Kasein hat zwar als solches keinen unmittelbaren Einfluss auf die Innere Reibung, wohl aber einen mittelbaren dadurch, dass bei seiner Bildung Kaseinionen verschwinden. Da nun die OH'-Konzentration in den sauren Lösungen geringer als in den neutralen ist, mithin die Hydrolyse stärker, so finden wir, dass die Innere Reibung der sauren Lösungen etwas niedriger ist.

Verringert man die Hydrolyse durch Zusatz von OH', so wird die Innere Reibung eine höhere; dies ist ebenso der Fall, wenn wir die sauren Salze durch Laugenzusatz allmählich in die neutralen überführen, als wenn wir, wie in früheren Versuchen, zu den neutralen Lösungen noch überschüssige Lauge hinzufügen.

Die Zunahme der Inneren Reibung mit Erhöhung der relativen Acidität zeigt Tabelle VI.

Für sie gelten die obigen Bezeichnungen; sie enthält einen von mehreren Versuchen mit gleichem Resultat.

Tabelle VI.

% Kasein	n	% Acidität	η	log A	log B · 10^2
3,24	0,0153	52,5	2,44	25,4	11,98
	0,0193	66,2	2,46	20,2	12,05
	0,0233	80,0	2,52	17.25	12,4
	0,0273	93,6	2,65	15,5	13,05

Setzen wir nun den Natronlaugenzusatz fort, kommen zu den neutralen Salzen und weiter zu solchen mit überschüssigen OH', so nimmt die Innere Reibung noch zu, um von einem Maximum wieder abzunehmen. Wir erklärten dies früher damit, dass zunächst immer weiter die Hydrolyse zurückgedrängt werde, und mehr Kasein im Jonenzustande existiere, sich allmählich aber der Einfluss des zugesetzten Na' geltend mache. Es besteht nämlich zwischen Kasein- und Natriumionen das Gleichgewicht:

$$\frac{Na' \cdot Cas'}{NaCas} = k$$

Werden nun die Natriumionen vermehrt, so bildet sich mehr elektrisch neutrales Kaseinnatrium, es müssen also Kaseinionen verschwinden. Die Innere Reibung wird also dann abnehmen, wenn durch den Natronlaugezusatz mehr Kaseinionen verschwinden, als durch Zurückdrängen der Hydrolyse gebildet werden.

Zum Beweise dieser Anschauung stellten wir schon in der früheren Arbeit Versuche an, in denen nur eine Natriumionen Vermehrung ohne gleichzeitigen Einfluss auf die Hydrolyse vorlag: wir fügten zu neutralen Kaseinsalzen NaCl hinzu, und die Innere Reibung nahm ab.

Eine Wiederholung dieser Versuche bei sauren Salzen gab das gleiche Resultat. Die Innere Reibung ging zurück. Tabelle VII enthält diese Versuche.

Die Bezeichnungen sind die gleichen wie früher; in der letzten Reihe ist das Volumen angegeben, um die Grösse der Verdünnung zu zeigen.

Tabelle VII.

% Kasein	n	% Acidität	Normalität an Na Cl	η_i	Volumen
3,70	0,01865	55,5	—	2,89	10,00
			0,004	2,74	10,04
1,85	0,0932	—	—	1,71	10,00
			0,004	1,615	10,04
			0,008	1,58	10,08
			0,012	1,56	10,12
			0,016	1,53	10,16
			0,02	1,48	10,20

Im Gegensatz zum Einflusse dieses gleichionigen Elektrolyten hatte KCl gar keinen Einfluss auf die Innere Reibung ausser denselben wie Wasser d. i. eine viel geringere Herabsetzung der Innern Reibung entsprechend der Verdünnung. Deren Wirkung ist überhaupt immer in Rechnung zu ziehen. Daher darf man auch nicht mit zu gering konzentrierten Zusätzen arbeiten, dann ist nämlich entweder überhaupt kein oder nur der Einfluss der Verdünnung zu konstatieren. Einen Beleg giebt Tabelle VIII.

Tabelle VIII.

% Kasein	n	% Acidität	Normalität an zugesetzter Lauge.	η_i	Volumen
2,82	0,01372	54,0	—	2,14	10,00
			0,0004	2,14	10,04
			0,0012	2,12	10,12
			0,002	2,12	10,2
			0,0028	2,105	10,28
			Zusatz dest. Wassers in cc^3		
			0,08	2,096	10,36
			0,16	2,085	10,44

Dass also bei Zusatz von NaCl nicht nur die Verdünnung, sondern ein spezifischer Einfluss auf die Innere Reibung vorliegt, ergiebt ein Vergleich der Zahlen von Tabelle VII mit denen von Tabelle VIII. Bei einer Zunahme des Volumens um 0,16 cc^3

von 10,28—10,44 durch Zufügung von Wasser nimmt die Innere Reibung um 1 % ab (Tabelle VIII), bei der von 10,00—10,16 durch Zufügung von $\frac{\text{Normal}}{1}$ NaCl um 10,5 % (Tabelle VII.).

Wir dürfen also als festgestellt ansehen, dass durch Vermehrung von Natriumionen, die keinen Einfluss auf die Hydrolyse haben, die Kaseinionen zurückgedrängt werden.

Dass nun aber, wie oben angenommen wurde, das Zurückgehen der Innern Reibung bei stärkerem Natronlaugen Zusatz ebenfalls durch den Einfluss von Natriumionen auf das elektrolytische Gleichgewicht stattfindet, müssen wir berichtigen; ich fand nämlich, dass Kalilauge die gleiche Wirkung hat: erst Zunahme der Innern Reibung, bei einer bestimmten OH' Konzentration Erreichen eines Maximums, dann Abnahme.

Tabelle IX zeigt dies Verhalten.

Tabelle IX.

% Kasein	n	% Acidität	Normalität der zugesetzten NaOH	γ_i	Volumen
1,635	0,00825	56,0	—	1,535	10,04
abnehmend bis	0,01225	83,3	0,004	1,55	10,08
	0,02025	138	0,012	1,58	10,16
	0,02825	192	0,020	1,78	10,24
	0,03225	**219**	0,024	**1,81**	10,28
	0,04025	274	0,032	1,70	10,36
1,57	0,04825	328	0,040	1,66	10,44
			Normalität der zugesetzten KOH		
1,501	0,0073	54,0	—	1,52	10,04
abnehmend bis	0,01131	83,5	0,0044	1,53	10,08
	0,01931	143	0,0124	1,59	10,16
	0,02731	**202**	0,0204	**1,78**	10,24
	0,03531	262	0,0284	1,75	10,32
1,44	0,04331	320	0,0364	1,69	10,40

Die Erklärung für die Zunahme der Innern Reibung beim Hinzufügen von OH' durch Zurückgehen der Hydrolyse ist richtig, die Abnahme bei stärkerer OH' Konzentration aber wohl auf deren spaltenden Einfluss zu beziehen. Wir wissen ja, dass die Eiweisse gegen irgend welche stärkeren Konzentrationen von Alkalien sehr empfindlich sind. Die Unabhängigkeit

dieser Erscheinungen vom Kation macht es wahrscheinlich, dass wir nur eine OH'-Wirkung darin sehen müssen.

Fassen wir nun die Ergebnisse über die sauren Salze zusammen, so können wir sagen, dass zwischen ihnen und den neutralen Salzen kein wesentlicher Unterschied besteht; es stellen vielmehr alle Kaseinsalze ein Gemisch dar von verschiedenen Kasein-Jonen (d. h. mit verschiedenem elektrolytisch abspaltbarem H-Gehalt) und ungespaltenem (hydrolytisch freigewordenem) Kasein. Hervorzuheben ist dabei, dass die Konzentration an letzterem in den sauren Lösungen relativ stärker ist.

Wir finden bei allmählichem Laugenzusatz zu Kasein keine scharf ausgezeichneten Punkte; darum ist es besser, die Bezeichnungen Mono-, Di-, Tri-caseine fallen zu lassen. Besonders ist ein sekundäres Salz mit Eigenschaften, die es allein befähigen sollen, durch Lab verändert zu werden, nicht nachzuweisen.

II. Teil.

Unterschiede zwischen Kasein und Parakasein.

Nachdem wir so im Vorhergehenden mit den physikalisch-chemischen Methoden etwas näher die Natur der Lösungen des Kaseins kennen gelernt haben, vor allem auch die der sog. sauren Salze, die allein für Lab angreifbar sind, durfte ich versuchen, ob nicht mit Hilfe dieser Methoden auch Unterschiede zwischen Lösungen des unveränderten Kaseins und solchen, auf die Lab gewirkt hatte, Parakaseinlösungen, zu gewinnen wären.

Nach den Untersuchungen Hammarsten's wurde der Gerinnungsprozess von der Mehrzahl der Forscher für zweiphasig angesehen: d. h. Einwirkung des Ferments auf das Kasein und seine Umwandlung in Parakasein als erste Phase, Ausfällung, die sichtbare Gerinnung als zweite: nur für letztere sei die Gegenwart von löslichen Kalksalzen notwendig.

Hammarsten schloss dies aus folgendem grundlegenden Versuche: Wurde Kasein in Natriumphosphat gelöst und Lab hinzugefügt, so tritt bei nachträglichem Zusatz einer solchen Menge von Chlorkalzium eine Fällung ein, die vorher zur Ausfällung nicht genügt hatte. Courant vereinfachte diesen Versuch, indem er das Kasein anstatt im phosphorsauren Salze in einer zur Neutralität ungenügenden Menge Natronlauge auflöste.

Gegen diese Versuche lässt sich einwenden, und das ist von verschiedenen Forschern, namentlich den Franzosen geschehen, dass die Zweiphasigkeit der Gerinnung durch sie nicht bewiesen werde, da es nicht ausgeschlossen sei, dass das Lab erst im Augenblicke des Zusatzes der Kalziumionen wirke. Dieser Einwand konnte aber widerlegt werden, da die Gerinnung auch eintrat, wenn die Lösung nach dem Labzusatze gekocht und das Ferment dadurch zerstört wurde. Trotzdem wurde

immer wieder der Einfluss des Labs und des Chlorkalziums untereinander geworfen und von französischen Autoren, wie Duclaux, sogar identifiziert. Andere Forscher machten sich eine mehr oder weniger mystische Vorstellung von der Beziehung, welche zwischen dem Labferment, dem Kasein und den Kalksalzen besteht; es soll nach de Jager das Lab dem Kasein Kalzium zuführen.

Die Schwierigkeit, diese Beziehungen richtig zu deuten, liegt daran, dass sich nur schwer die Veränderungen, welche das Kasein in einer kalkfreien Lösung durch das Labferment erfahren hat, ohne Mithilfe von Kalzium bezw. anderer Erdalkalien nachweisen lassen.

Die Unterschiede in der elementaren Zusammensetzung des Kaseins und Parakaseins sind geringe und unsichere. Hammarsten und Köster und in neuerer Zeit Rotondi behaupteten, Parakasein enthalte weniger Stickstoff und Phosphor als Kasein. Eine aus hiesigem Institut demnächst zu veröffentlichende Arbeit soll genaueres darüber angeben.

Ungerinnbarkeit.

Als der wichtigste Unterschied zwischen Kasein und Parakasein wird stets angegeben: Parakaseinlösungen seien für Lab ungerinnbar. In dieser Behauptung liegt ein innerer Widerspruch: versteht man unter Gerinnung nach den Hammarsten'schen Versuchen korrekterweise Umwandlung des Kaseins in Parakasein und dessen Fällung durch lösliche Kalksalze, so kann natürlich einmal umgewandeltes Kasein nicht nochmals umgewandelt werden, wohl aber muss es in Lösungen, die zu seiner Fällung genügende Mengen Chlorkalzium enthalten, ausfallen. Hammarsten's Versuche, welche die Ungerinnbarkeit von Parakaseinlösungen erweisen sollten, im Gegensatz zu der Peters'schen Behauptung, sind nur ein Beweis, dass Parakaseinlösungen bei Zusatz von salzfreiem Lab und einer gewissen Menge Chlorkalzium in Lösung bleiben; bei derselben Menge würde aber auch bei Einwirkung des Labs auf eine Kaseinlösung keine sichtbare Veränderung vor sich gehen.

Trotzdem behalten die Hammarsten'schen Versuche ihren Wert zur Widerlegung der Peters'schen Angabe, dass Lab in einer Parakasein-Kalklösung ohne Anwesenheit von Chlorkalzium allein eine Fällung d. h. Gerinnung bewirke. Ich selbst konnte durch mehrfache Versuche bestätigen, dass eine solche und zwar eine geringfügige, unvollständige nur eintritt, wenn das Lab kochsalzhaltig war, und dass die Lösung sich ganz gleich verhielt, ob gekochtes oder ungekochtes Lab verwandt wurde. Man darf daher gar nicht von Gerinnung solcher Parakaseinlösungen sprechen, wohl aber von Ausfällung, sowohl durch Chlorkalzium wie durch geringe Mengen Chlornatrium. In dem Verhalten zu Chlornatrium ist in diesen Versuchen ein Unterschied zwischen Kasein- und Parakaseinlösungen nicht zu erkennen. Sie scheinen mir zugleich die schon erwähnten Angaben der französischen Forscher zu widerlegen, dass Lab und Kalksalze dieselbe Wirkung auf Kasein haben, nämlich dies zu fällen; sie kamen vermutlich nur durch Verwendung salzhaltiger Präparate zu dieser Anschauung.

Fällungsgrenzen.

Die Parakaseinlösungen lassen sich von den Kaseinlösungen dadurch unterscheiden, dass sie durch geringere Mengen von Chlorkalzium gefällt werden. Ein weiterer Unterschied ergab sich durch Bestimmung der Fällungsgrenzen nach Hofmeister mit Ammonsulfat. Diese wie alle weiter unten stehenden Versuche bestanden aus zwei Teilen, von denen der erste den Kontrollversuch darstellte, indem zur Kaseinlösung gekochtes Lab zugefügt wurde, der zweite den eigentlichen Versuch mit Parakasein, d. h. der Kaseinlösung, welche der Einwirkung des Labferments unterworfen worden war.

Die Lablösung stellte ich selbst dar: Kälbermagen wurde mit 0,4—0,5% Salzsäure 48 Stunden unter Zusatz von Thymol extrahiert, gegen öfter gewechseltes destilliertes Wasser dialysiert, der Niederschlag filtriert. Die Lösung enthielt nur wenig Eiweiss, und ihre Acidität für Phenolphtalein entsprach etwa der einer $\frac{\text{Normal}}{20}$ Säure.

Um 30 cc^3 einer 3% Kaseinlösung innerhalb weniger Minuten zur Gerinnung zu bringen, genügte bei Zusatz des gleichen Volumens

0,4% neutraler Chlorkalziumlösung 1 Tropfen = 0,04 cc³ meiner Lablösung.

Gewöhnlich wurde auf 10 cc³ Kaseinlösung ein Tropfen Lab bez. gekochtes Lab gegeben; beide Lösungen dann etwa eine halbe Stunde zwischen 38—40° C. im Wasserbade belassen. Zu einzelnen Proben der Lösungen wurden gleiche Volumina 0,04% Chlorkalziums gefügt, und es wurde damit die Wirksamkeit bez. Unwirksamkeit der Lab- bez. gekochten Labzusätze erwiesen.

In der Tabelle X steht in der ersten Spalte Prozentgehalt an Kasein, in der zweiten wieviel von der zur Neutralität nötigen Lauge angewandt wurde, in der dritten die untere Fällungsgrenze, d. i. die Zahl Kubikzentimeter Ammonsulfatlösung, bei der die Fällung beginnt, in der vierten die obere Fällungsgrenze, bei der die Fällung vollendet scheint, d. h. das klare Filtrat auch bei weiterem Ammonsulfatzusatz klar bleibt, aber noch Eiweissreaktion zeigt, in der fünften endlich die von mir sogenannte oberste Grenze, wo das klare Filtrat auch keine Eiweissreaktion mehr gibt. Die oberen Zahlen bedeuten Kasein, die unteren fettgedruckten Parakasein.

Tabelle X.

% Casein	% Acidität	untere Fällungsgrenze	obere Fällungsgrenze	oberste Fällungsgrenze
4,12	55,0	2,4 **2,2**	3,4 **2,6**	3,8 **3,4**

Wir sehen, dass das Parakasein zeitiger zu fallen beginnt und auch eher die obere Fällungsgrenze erreicht.

Dass durch den Labzusatz in der Kaseinlösung eine Veränderung vor sich gegangen ist, lässt sich also auch ohne Zusatz von Kalksalzen nachweisen.

Acidität.

Schon Hammarsten hatte gezeigt, dass sich das Parakasein aus seinen kalkfreien Lösungen durch Säuren ausfällen und durch Alkali wieder in Lösung bringen lässt. Es

besitzt also offenbar noch die Charaktere einer Säure und seine Lösungen sind als die von Salzen zu betrachten. Aus seinen Angaben erhellt auch, dass die Bildung des Käses in der Milch nicht mit einer sichtbaren Änderung der Reaktion verbunden ist, was auch Söldner durch Titrierung mit Phenolphtalein genau feststellte. Auch Courant fand, dass eine Kaseinlösung, welche mit einer zur Neutralität ungenügenden Menge Lauge hergestellt worden war, nach Einwirkung des Labferments zur Neutralität auf Phenolphtalein genau die gleiche Menge Natronlauge wie vorher verbrauchte. Die von mir mit grösster Sorgfalt wiederholten Versuche führten zu dem gleichen Ergebnis. Die Acidität des Parakaseins ist also, soweit sich dies durch Titrierung feststellen lässt, die gleiche wie die des Kaseins.

Elektrische Leitfähigkeit.

Dass kein wesentlicher Unterschied in der Acidität besteht, zeigen auch die Leitfähigkeitsversuche. Bei Untersuchung der Leitfähigkeit der Parakaseinlösungen ergab sich, dass diese bei Lösungen, die etwa 55 % der zur Neutralität nötigen Natronlauge enthielten, keine wesentlich andere, als die der Kaseinlösungen war. Die Unterschiede betrugen nur wenige Prozente, meist lag allerdings die Differenz in der Richtung, dass das Parakasein etwas besser leitete. Als Mittel aus 29 Versuchen ergab sich, dass die spezifische Leitfähigkeit des Parakaseins um 2,17 % höher als die des Kaseins war.

Innere Reibung.

Beträchtlich grössere Unterschiede zeigte die Innere Reibung.

In der Tabelle XI seien einige Versuche wiedergegeben. Die oberen Zahlen bedeuten wieder die Kasein-, die unteren fettgedruckten die Parakaseinlösungen. Die Bezeichnungen wie oben; in der letzten Reihe steht der prozentuale Unterschied zwischen den Ergebnissen, und zwar in der oberen Zeile der beiden Inneren Reibungs-Zahlen η_i, in der untern fettgedruckten der beiden Konstanten $\log B = \frac{\log \eta_i}{\%\ \text{Kasein}}$, also wenn P Parakasein, K Kasein bedeutet, ist die obere Zahl gleich $\left(100 - \frac{\eta_{iP}}{\eta_{iK}} \cdot 100\right)$ die untere $\left(100 - \frac{\log B_P}{\log B_K} \cdot 100\right)$.

Tabelle XI.

% Kasein	n	% Acidität	η_i	log B · 10^2	Differenzen
2,82	0,01372	54,0	2,257	12,5	17,6
			1,855	**9,55**	**23,6**
3,70	0,01865	56,0	2,882	12.4	14,0
			2,48	**10,7**	**13,6**
1,85	0,009325		1,71	13,6	11,4
			1,515	**9,75**	**22,5**
3,78	0,01904		2,89	12,2	19,4
			2,33	**9,71**	**20,4**
1,89	0,00952	55,5	1,68	11,9	9,5
			1,52	**9,62**	**19,1**
0,945	0,00476		1,27	11,0	5,5
			1,20	**8,40**	**23,8**

Diese Tabelle lehrt uns, dass bei den konzentrierteren Lösungen der Unterschied in der Inneren Reibung von Kasein und Parakasein 20 % und darüber ist, die Konstante 14-24 % Differenz aufweist. Hierbei möchte ich noch erwähnen, dass Gutzeit in der Milch nach Zufügung von Lab, bevor noch sichtbare Fällung eintritt, Änderung ihrer Viskosität erhält, die meinen Versuchen direkt entgegesetzt liegt: die veränderte Milch soll eine stärkere Reibung besitzen. Die Erklärung für diese Differenz ist wohl in den wesentlich komplizierteren Verhältnissen, welche die Benutzung der Milch bedingt, zu suchen.

Abhängigkeit der Labwirkung von der Reaktion.

Dieselben eben besprochenen Methoden gestatten uns auch eine andere für die Theorie der Labwirkung wichtige Frage zu entscheiden, welche Bedeutung die Reaktion für die Labgerinnung hat, und zwar, ob durch zunehmende OH'-Konzentration die erste Phase: die Wirkung des Ferments, oder die zweite: Ausfällung des Parakaseins durch Chlorkalzium, leide.

Schon Söldner und Courant hatten gefunden, dass bei Zusatz von Laugen zu den für Lab gerinnbaren Lösungen (Milch, sog. Dikaseinlösungen) die Gerinnung verzögert bez. über-

haupt verhindert wird. Desgleichen gab de Jager an, bei welcher Laugenkonzentration das Optimum der Gerinnung lag. In jüngster Zeit untersuchte Weitzel wiederum den Einfluss von verschiedenen OH'dissozierenden Stoffen wie Borax, kohlensaures Natrium usw.

Ich konnte nun die früheren Angaben bestätigen.

Stellt man Lösungen von Kasein mit abnehmender Acidität bis zur Neutralität für Phenolphtalein her, und lässt auf sie Lab einwirken, so verschwinden allmählich die eben besprochenen Unterschiede zwischen Kasein und Parakasein.

Zunächst fand auch ich, wie die folgende Tabelle zeigt, dass die Gerinnung als ganzer Prozess (Umwandlung in Parakasein und folgende Fällung) unvollkommener wurde und schliesslich ganz ausblieb.

Tabelle XII.

% Acidität	Art der Gerinnung
55,0	sehr gut, Filtrat klar
65,2	gut, Filtrat klar
76,2	gut, Filtrat klar
85,0	mässig, Filtrat opalescent
87,2	kaum merklich
92,2	feinste Fällung
96,5	nicht
100,0	nicht

Durch diese Versuche, wie die der früheren Autoren, ist aber nicht zu sagen, welche der beiden Phasen der Gerinnung durch die wachsende OH' Konzentration gestört wird. Durch die oben angewandten Methoden, die ermöglichen, die erste Phase der Gerinnung allein zu beobachten, zeigte sich, dass die Wirkung des Ferments selbst geschwächt wird.

Die Fällungsgrenzen mit Ammonsulfat der Kaseinlösungen und der mit Lab versetzten liegen immer näher zusammen.

Tabelle XIII.

% Kasein	% Acidität	untere Fällungsgrenze	obere Fällungsgrenze	oberste Fällungsgrenze
4,015	71,4	2,5 **2,4**	3,2 **2,7**	3,6 **3,4**
2,102	76,2	2,4 **2,4**	3,2 **2,8**	3,8 **3,8**
2,144	85,0	2,6 **2,2**	3,4 **3,0**	3,8 **3,8**
3,716	92,2	2,6 **2,6**		

In der Leitfähigkeit waren die Unterschiede in den sauren Lösungen schon so gering, dass sich kaum Sicheres aussagen liess, in den neutralen Lösungen sind sie noch geringer; es ergiebt sich für letztere aus 8 Versuchen eine Differenz von 0,95 % gegen + 2,17, die aber in entgegengesetzter Richtung liegt als bei den sauren Lösungen, d. h. also die Leitfähigkeit der mit Lab versetzten neutralen Lösungen ist um 0,95 % niedriger als die in den mit gekochtem Lab behandelten.

Deutlich wird der Einfluss der OH'Jonen auf die Labwirkung durch die Innern Reibungszahlen wie Tabelle XIVzeigt.

Tabelle XIV.

% Kasein	% Acidität	η	log B · 10^2	Differenzen
2,82	54,0	2,257 **1,855**	12,5 **9,55**	17,6 **24.0**
2,74	65,1	2,198 **1,955**	12,5 **10,6**	11,1 **15,0**
2,008	71,4	1,745 **1,615**	12 0 **10.38**	7,5 **13,5**
2,65	84,6	2,30 **2,125**	13,61 **12,35**	7,6 **9,4**
2,144	85,0	2,018 **1,96**	14,20 **13,6**	2,8 **4,0**
3,716	92,2	3,69 **3,69**	15,2 **15,2**	0,0 **0,0**
3,024	100,0	2,46 **2,51**	12,9 **13,2**	—2 **—2**

Die Unterschiede werden immer kleiner, verschwinden schliesslich, um sogar in die entgegengesetzte Richtung sich zu kehren.

Es bleibt gleichsam noch eine Unterfrage zu beantworten, ob das Lab durch die steigende OH' Konzentration nur gelähmt, d. h. an der Wirkung bei dieser bestimmten Konzentration verhindert, oder ob es dadurch wirklich zerstört ist. Das letztere ist der Fall, wie folgender Versuch beweist.

Lässt man auf eine neutrale Lösung Lab einwirken, und löst nun in dieser Lösung Kasein auf, so dass die entstehende Lösung nur etwa 50% der zur Neutralität nötigen Lauge enthält, setzt nun die zur Gerinnung genügende Menge Chlorkalzium hinzu, so tritt keine Gerinnung ein; 1 Tropfen neuen Labs hat sehr gute Gerinnung zur Folge.

Wird nun aber auch das Lab durch die bei neutralen Lösungen vorhandene OH' Konzentration zerstört, so bleibt die bei geringerer Konzentration in der sauren Lösung einmal eingetretene Umwandlung des Kaseins durch nachträglichen Zusatz von Natronlauge erhalten. Lassen wir Lab auf eine Lösung des sauren Kaseinsalzes einwirken, neutralisieren dann die Lösung für Phenolphtalein, fügen zu der jetzt neutralen Lösung Chlorkalzium, so tritt sofort Gerinnung ein; allerdings ist diese nie so gut wie in den sauren Lösungen. Es liegt dies wohl an der teilweisen Löslichkeit des Käses in der beträchtliche Mengen von OH' enthaltenden Lösung.

Dasselbe beweist auch die Innere Reibung dieser neutralisierten Lösung. Tabelle XV enthält einige Belege.

In der zweiten Spalte beeeuten die unteren eingeklammerten Zahlen den Prozentsatz der zur Neutralität nötigen Lauge, welche die Lösung bei Einwirkung des Ferments hatte.

Tabelle XV.

% Kasein	% Acidität	η_i	log B · 10^2	Differenzen
2,96	**100,0**	2,48	13,3	10,5
	(55,5)	**2,22**	**11,7**	**12,0**
2,26	**104,0**	1,95	12,8	8,6
	(54,0)	**1,78**	**11,1**	**13,3**
1,31	**100,0**	1,45	12,3	4
	(56,2)	**1,39**	**10,9**	**11,5**
1,345	**100,0**	1,488	12,8	5
	(67,5)	**1,415**	**11,2**	**12,5**

III. Teil.

Theorie der Gerinnung.

Zweiphasigkeit.

Vergleichen wir nun auf Grund der jetzt besprochenen experimentellen Tatsachen die Kasein- und Parakaseinlösungen, so fällt neben der verschiedenen Fällbarkeit durch Salze als deutlichster Unterschied die Differenz in ihrer Innern Reibung auf. Zunächst ist hierdurch die zweiphasige Natur des Gerinnungsprozesses absolut sichergestellt; die Wirkung des Labs auf das Kasein tritt ohne jede Anwesenheit von Kalzium-Jonen ein.

Die Vorstellung de Jager's: das Lab führe dem Kaseinsalz statt des Natrium Kalzium zu, erledigt sich von selbst; desgleichen die der französischen Autoren, dass Lab und Chlorkalzium dieselbe Wirkung habe, nämlich Kasein zu fällen.

1. Erste Phase. Wirkung des Labs.

Welche Veränderungen gehen bei der Wirkung des Labs vor sich?

Ich glaube, dass die obigen Ergebnisse sich am besten dem Rahmen der Hammarsten'schen Vorstellung einfügen: das Lab wirke spaltend auf das Kasein-Molekül; allerdings darf man sich dabei nicht vorstellen, dass es sich hier um eine so tiefgreifende und allmählich fortschreitende Zerlegung des Kasein-Moleküls handle, wie sie unter dem Einflusse des Pepsins oder Trypsins erfolgt, sondern das Lab wirkt wohl in der Weise, dass es aus dem grossen Molekül des Kaseins einen verhältnismässig kleinen Teil abspaltet.

Von den gefundenen Unterschieden zwischen Kasein und Parakasein ist der in der Inneren Reibung beider Körper am grössten, die des Parakaseins ist geringer und zwar bis um 20 %.

Zur Erklärung dieses Unterschiedes kommen zwei Möglichkeiten in Betracht. Wir sahen oben, dass die Innere Reibung dieser Eiweisslösungen im allgemeinen von der Grösse der Anionen bedingt ist, und bei demselben Salze in einzelnen Fällen sich durch die Jonenkonzentration unterscheide. Finden wir hier eine so bedeutende Abnahme der Inneren Reibung in der Parakaseinlösung, so kann entweder eine Veränderung in der Grösse der Anionen (Abspaltung) oder eine Abnahme der Jonenkonzentration stattgefunden haben.

Ziehen wir die Ergebnisse der Leitfähigkeitsmessungen zu Rate, so sehen wir, dass mehr für die erste Annahme spricht; denn die Leitfähigkeit der Parakaseinlösungen scheint eine höhere zu sein; dies verträgt sich besser mit der Annahme einer Spaltung, da durch diese die Jonenbeweglichkeit im allgemeinen eine grössere wird; ein Rückgang der Eiweissionenkonzentration und ihr Ersatz durch die viel schnelleren OH' hätte allerdings das gleiche Ergebnis: Zunahme der Leitfähigkeit; die Annahme des Wachsens der OH'-Konzentration wird aber durch die obigen Aciditätsversuche widerlegt, da wir nach Einwirken von Lab genau die gleiche Menge Lauge zur Neutralisierung gebrauchen wie vor diesem.

Endlich sind die Verschiedenheiten in den Fällungsgrenzen von Kasein und Parakasein ein Ausdruck für Veränderung des Kasein-Moleküls. Es beginnt die Fällung früher, die Hauptmasse des Parakaseins ist auch wesentlich zeitiger gefällt (obere Fällungsgrenze) und auch die oberste Fällungsgrenze, welche die völlige Ausfällung des Kaseins anzeigt, ist ebenfalls, wenn auch nur wenig, tiefer. Dass die obere und oberste Fällungsgrenzen so weit auseinander liegen, erweckt besonders den Anschein, dass wir es mit zwei verschiedenen Körpern zu tun haben, von denen der eine, in geringerem Grade vorhandene, später ausfällt.

Eine genauere Prüfung dieser Verhältnisse eventuell mit anderen Fällungsmitteln könnte zur Isolation der Spaltungsprodukte führen.

Der Einwand, es sei doch merkwürdig, dass die abgespaltenen Körper niedrigere Fällungsgrenzen als das ursprüngliche Kasein haben, während im allgemeinen die

Fällungsgrenzen mit der Kompliziertheit und Grösse der auszusalzenden Substanz abnehmen, ist durch analoge Erfahrungen über Fällungsgrenzen der primären Albumosen, die tiefer als die der Mutter-Substanz, Albumine, liegen zu widerlegen.

Hier ist noch auseinanderzusetzen, warum die prozentische Zunahme der elektrischen Leitfähigkeit in den Parakaseinlösungen so wenig, etwa 2 %, die Abnahme der Inneren Reibung aber an 20 % gegenüber den Kaseinlösungen beträgt.

Schon wiederholt ist darauf hingewiesen, dass die Leitfähigkeit, eine Funktion von (u + v), wo u die Beweglichkeit des Kations, v die des Anions ist, hauptsächlich bei der verschiedenen Grössenordnung von u und v in unseren Natriumkaseinlösungen von u abhängen wird, die Innere Reibung dagegen hauptsächlich von dem unbeweglicheren Jon, denn sie wird mit wachsendem Molekulargewicht und abnehmender Jonenbeweglichkeit grösser. Eine der einfachsten Funktionen, die dies ausdrückte, wäre unter Fortlassung der Inneren Reibung von undissozierten Molekeln, die nach obigen Versuchen gering gegen die der Jonen sein muss:

$\gamma = k\left(\frac{1}{u} + \frac{1}{v}\right)$. In dieser ist ersichtlich, dass $\frac{1}{v}$, wenn $v < u$ ist, den bedeutenderen Einfluss auf den Gesamtwert γ hat. (v ist nach den Leitfähigkeitsbestimmungen in unserem Falle etwa ein $^1/_4$ von u.)

Ändert sich nun, wie wir oben annahmen, durch das Labferment v, d. h. wird es grösser, weil das Anion gespalten wird, so verstehen wir, warum der Wert der Funktion $(u+v)$ zunimmt, aber nur um ein geringes, der von $\left(\frac{1}{u} + \frac{1}{v}\right)$ abnimmt und zwar wesentlich mehr.

2. Zweite Phase der Gerinnung: Wirkung der Kalksalze.

Es bleibt jetzt noch zu erörtern, warum die Erdalkalien im besonderen die Kalksalze eine Sonderstellung in der zweiten Phase der Gerinnung, der Ausfällung des veränderten Kaseins haben.

Schon Osborne zeigte, dass die Trübung beim Zusatz von Chlorkalzium zu einer Kaseinlösung auf der Hydrolyse beruhe. Ein Teil der $Ca^{\cdot\cdot}$ verbindet sich mit OH' zu undissoziertem $Ca(OH)_2$; da aber jede Verringerung der OH' Konzentration, die H' Konzentration steigert, und diese wieder ungünstig auf die Existenz freier Kaseinionen wirkt, so nimmt auch die Bildung von ungespaltener Kaseinsäure zu. Auf deren teilweisen oder vollständigen Unlöslichkeit beruht die Trübung, ihre starke Zunahme beim Erwärmen liegt ebenfalls an der Steigerung der Hydrolyse mit steigender Temperatur.

Ein solches System, das beträchtliche Mengen eines ungelösten Kolloids enthält, ist sehr labil, und geringste Einflüsse genügen zu seiner völligen Veränderung.

Zu deren Verständnis müssen wir kurz auf die modernen Forschungen über Kolloidfällungen eingehen Diese lehren, dass sog. negative Kolloide, das sind solche, die in einem stärkeren elektrischen Potentialgefälle nach der Anode wandern, durch positive, das sind Kolloide mit entgegengesetzter, kathodischer Wanderungsrichtung (Konvektion), gefällt werden. Eiweisse in Alkalien zeigen negative, kolloidale Metallhydroxyde positive Konvektion. Die verschiedene Fähigkeit der Salze zur Ausflockung von Kolloiden hat man daher auf ihre mehr oder weniger starke Hydrolyse, d. h. auf die relativ mehr oder weniger grosse Menge abgespaltenen Metallhydroxyds zurückgeführt.

Loevenhart gruppierte letzthin die Salze bez. Kationen nach ihrer fällenden Wirkung auf Kasein und Parakasein.

In der ersten Gruppe stehen die Alkalimetalle, die er unrichtigerweise völlig unwirksam nennt, während ihnen nach Hammarsten's und meinen Versuchen eine gewisse, wenn auch unvollkommene Wirksamkeit zukommt; in der zweiten die Erdalkalien, Magnesium-, Ferrosalze, die bei gewöhnlicher Temperatur nur Parakasein, und erst bei höherer Temperatur oder stärkerer Konzentration Kasein fällen; in der dritten Gruppe die übrigen Metalle und die Ferrosalze, die bei gewöhnlicher Temperatur und verhältnismässig geringer Konzentration beide Körper ausfällen.

Dieser Reihenfolge der Metalle geht ganz die Abnahme

ihrer basischen Eigenschaften parallel, wozu die Zunahme der hydrolytischen Abspaltung des Metallhydroxyds gehört.

Kehren wir jetzt zu unserem System Kaseinnatrium und Chlorkalzium zurück, dessen sehr trübes Aussehen seine Inhomogenität beweist, so verstehen wir, dass die gleichzeitige Anwesenheit von abgespaltenem Metallhydroxyd und Kaseinsäure eine grosse Labilität bedingen wird. Eine Änderung des Kaseinmoleküls wird Einfluss auf das ganze System haben. Nehmen wir nun gar an, wie wir es oben getan, es finde eine Abspaltung statt, so wird dieser abgespaltene Körper nach Analogie mit verwandten Erscheinungen die Fällung befördern.

So sahen z. B. Neisser und Friedemann jüngst, dass der negativ geladene Mastix in einer zu seiner Ausfällung ungenügend konzentrierten Salzlösung ausflockte, als geringste Mengen eines andern Kolloids wie Serum, Gelatine u. ähnl. zugefügt wurden.

Durch diese Betrachtungen ist die Sonderstellung der Erdalkalimetalle im Gerinnungsprozesse auf ihre Stellung in der Reihe der Metalle zurückgeführt: ihre mittelstarken basischen Eigenschaften sind besonders geeignet, infolge der mittelstarken Hydrolyse labile Systeme mit Eiweisslösungen zu bilden, und so auch kleine Änderungen in diesen hervortreten zu lassen.

Zum Schlusse erfülle ich gern die angenehme Pflicht, meinem verehrten Lehrer, Herrn Professor Franz Röhmann, für Anregung und Rat bei dieser Arbeit, wie für sein liebenswürdiges Interesse, das er mir während meiner Studienzeit stets bewiesen hat, meinen herzlichsten Dank auszusprechen.

Litteratur.

Abegg, Dissoziationstheorie (Ahrens' Vortrags-Sammlung) 1903.
Arrhenius, Zeitschr. für physikalische Chemie **1**.
Arthus et *Pagès*, Arch. d. Physiologie **22**.
Brehhold, Zeitschr. für physikalische Chemie **48**.
Biltz, Chem. Ber. 37.
Nachrichten der Königl. Gesellschaft d. Wissensch. zu Göttingen 1904.
Bredig, Zeitschr. f. Elektrochem. 1899/1900. 1903.
— Ergebnisse d. Physiol. 1_1.
Briot, Thèse de Paris 1900 (zit. nach Fuld, Ergebn. d. Physiol. 1_1).
Cohnheim, Chemie der Eiweisskörper. Braunschweig 1904.
Conradi, Münch. Med. Wochenschrift 1901.
Courant, Pflügers Archiv **50**.
Duclaux, Traité de Microbiologie, Tome 2.
Euler, Ztschr. f. physikal. Chem. **25**.
Fick, Pflügers Archiv **45**. **49**.
Freudenreich, Centralblatt f. Bakteriol. **4**.
Fuld, Hofmeisters Beiträge **2**.
— Ergebnisse der Physiologie 1_1.
Gutzeit, Milchzeitung 24.
Halliburton, Journal of Physiology 1890.
Hammarsten, Lehrbuch der Physiolog. Chem. 1904. Zeitschr. f. Physiol. Chem. **22**.
de Jager, Maly's Jahresber. 1897.
Kohlrausch und *Holborn*, Leitvermögen d. Elektrolyte. Leipzig 1898.
Köster, zit. nach Fuld, Ergebnisse d. Physiol. 1_1.
Lundberg, ebenda.
Laqueur und *Sackur*, Hofmeisters Beiträge **3**.
Loevenhart, Zeitschr. f. Physiol. Chem. **41**.
Lörcher, Pflügers Arch. 69.
Müller, Münch. mediz. Wochenschrift **49** (1902).
Neisser und *Friedemann*, Münch. mediz. Wochenschrift **51** (1904).

Noyes, Zeitschr. f. physikal. Chem. **11**.
Oppenheimer, Fermente und ihre Wirkung 1903.
Osborne, Journal of Physiology **27** (1901).
Ostwald, Grundriss der allgemeinen Chemie 1900.
— Zeitschr. f. physikal. Chem. **2** (1888).
Peters, Dissertation u. Preisschrift. Rostock 1894.
Pfeiderer, Pflügers Archiv **66**.
Reyer, Zeitschr. f. physikal. Chem. **2** (88).
Ringer, Journal of Physiology (1891).
Rotondi, Monatsschr. f. Kinderheilk. 1903.
Rudorf, Zeitschr. f. physikal. Chem. **43**.
Söldner, Dissertation. Erlangen 1888.
Spriggs, Zeitschr. f. physiol. Chem. **35**.
Trevor, Zeitschr. f. Physikal. Chem. **10**.
Walden, Zeitschr. f. Physikal. Chem. **8**.
Walther. Pflügers Arch. 48.
Weitzel, Mitteil. aus d. Kais. Gesundheitsamt **19**.

Lebenslauf.

Ich, Ernst Laqueur, bin als Sohn des Kaufmanns Siegfried Laqueur in Obernigk, Kr. Trebnitz, am 7. August 1880 geboren. Von Oktober 1886 bis Michaëlis 1898 besuchte ich die Vorschule und das Gymnasium zu St. Maria Magdalena in Breslau, das ich mit dem Zeugnis der Reife verliess. Darauf studierte ich Medizin und zwar 7 Semester in Breslau, 2 Semester in Heidelberg. Dort bestand ich Juli 1900 die ärztliche Vorprüfung, Juli 1904 die ärztliche Staatsprüfung. Im Wintersemester 1900/01 diente ich als Einjährig-Freiwilliger im Grenadierregiment König Friedrich III., (2. schles.) No. 11 in Breslau. In meiner Studienzeit arbeitete ich während mehrerer Semester im chemischen Laboratorium des physiologischen Instituts und in der physikalisch-chemischen Abteilung des chemischen Instituts in Breslau, und veröffentlichte gemeinsam mit meinem Freunde Otto Sackur in Hofmeisters Beiträgen eine physikalisch-chemische Studie zur Eiweisschemie: „Über die Säureeigenschaften und das Molekulargewicht des Kaseins und seine Spaltung beim Trocknen".

Seit Beendigung meines Staatsexamens arbeitete ich an vorliegender Arbeit wiederum im chemischen Laboratorium des hiesigen physiologischen Instituts.

Während meines Studiums hörte ich die Vorlesungen folgender Herren:

Abegg, Aschaffenburg, Born †, Bütschli, H. Cohn, Dienst, Ebbinghaus, Filehne, Kuno Fischer, Flügge, Freudenthal, Gegenbaur, Göppert, Groenouw, Hasse, Heine, Henle, Hürthle, Kast †, Königsberger, Kräpelin, Krause, Kühne †, Kükenthal, Kümmel, Küstner, Maurer, v. Mikulicz-Radecki, Muther, Neisser, Peter, Pfannenstiel, Ponfick, Röhmann, Schäffer, Schaper, Sombart, R. Stern, W. Stern, Thode, Quincke, Uhthoff, Wernicke.

Allen diesen meinen Lehrern gebührt mein herzlicher Dank.